

Khas untuk :

Kedua belah pihak keluargaku

dan

keluarga angkatku ...serta

Teristinewa untuk :

Bakal tunangku,

Azizah Binti Abdullah .

KESAN EKSTRAK AIR TIHOSPORA CRISPA KE ATAS
SISTEM KARDIOVASKULAR DAN BERAT BADAN TIKUS

ABDUL RAHIM YAHAYA

PUSAT PENGAJIAN SAINS FARMASI
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

1983

KESAN EKSTRAK AIR TINOSPORA CRISPA KE ATAS
SISTEM KARDIOVASKULAR DAN BERAT BADAN TIKUS

OLEH

ABDUL RAHIM YAHAYA

TESIS

yang dikemukakan kepada

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

bagi memenuhi sebahagian dari syarat-syarat
untuk memperolehi ijazah

SARJANAMUDA SAINS FARMASI KEPUJIAN

Dalam bidang Farmakoloji anjuran

PUSAT PENGAJIAN SAINS FARMASI

1983

ABDUL RAHIM YAHAYA
PUSAT PENGAJIAN SAINS FARMASI
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
PULAU PINANG .

Februari 1983

THE EFFECTS OF AQUEOUS EXTRACT TINOSPORA CRISPA
ON CARDIOVASCULAR SYSTEM AND BODY WEIGHT OF THE
RATS

BY

ABDUL RAHIM YAHAYA

THESIS

submitted to the

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

as partial fulfilment of the requirements
needed for the degree of

BACHELOR OF PHARMACY WITH HONOURS

in Pharmacology

a course presented by School of Pharmaceutical
Sciences

1983

ABDUL RAHIM YAHAYA
SCHOOL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
PULAU PINANG .
February 1983

PENGHARGAAN

Syukur Alhamdulillah kehadiran Allah azza wajalla dengan limpah kurniNya jualah saya dapat menyelesaikan tesis ini. Sekalong doa dan harapan serta ucapan terima kasih yang tidak terhingga saya lafazkan kepada kedua ayah dan bonda saya yang telah bersusah payah membanting tulang empat kerat mereka jua berkorban nyawa bagi menyekolahkan saya sehingga boleh saya mendampingi dunia ilmu pengetahuan. Kepada abang dan adik-adik saya, saya amat hargai segala dorongan dan galakkan dari kalian semua. Tidak ketinggalan juga, jutaan terima kasih saya kepada kedua ayah dan bonda angkat serta adik-adik angkat saya diatas bantuan ikhlas yang tidak terhingga. Kepada bantal tunangku, Azisah Binti Abdullah harapan dan doaku noga saling bantu membantu dan kerjasama yang ikhlas tetap kekal abadi.

Tesis ini tidak akan selesai tanpa dorongan dan bimbingan serta tunjuk ajar yang bernas daripada Dr. Aishah Binti Latiff dan Dr. Zaini dari Pusat Pengajian Sains Farmasi selaku pembimbing saya. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Dr. Syed Mohsin Sahil Jamalulail diatas khidmat ikhlas yang tidak terhingga. Jua kepada semua pensyarah serta kakitangan an Pusat Pengajian Sains Farmasi, Universiti Sains Malaysia diatas kerjasama dan

Saya juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Dr. Gan Ee Kiang dan Dr. Ch'ng Hung Seng selaku Dekan dan Timbalan Dekan Pusat Pengajian Sains Farmasi, kerana galakkan serta bimbingan mereka untuk saya mengikuti bidang Farmasi ini. Untuk itu saya ucapkan terima kasih juga kepada semua pensyarah dan kakitangan akademik amnya diatas jasa baik mereka selama saya berada disana.

Kepada rakan-rakan seperjuangan yang sama-sama mengharungi suka-duka dan pasang surut gelombang hidup diUniversiti Sains Malaysia ini ,kenangan bersama kalian tetapkan abadikan sehingga ke akhir hayat ini.

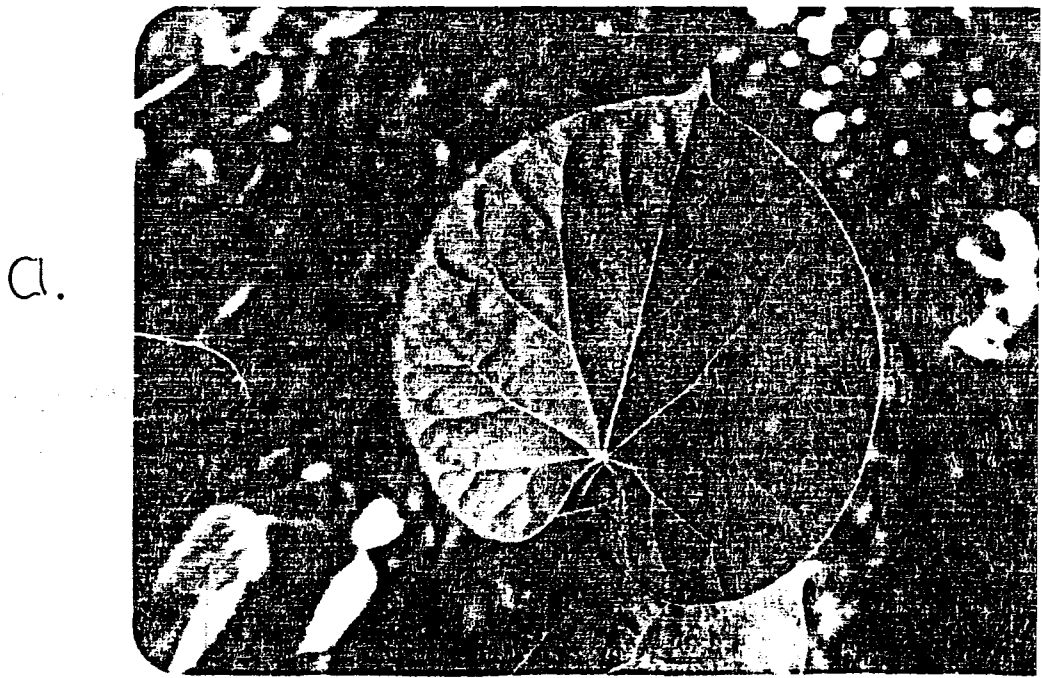
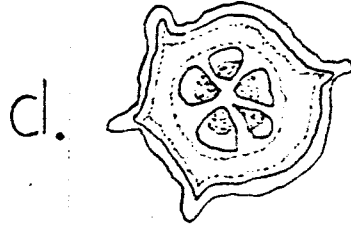
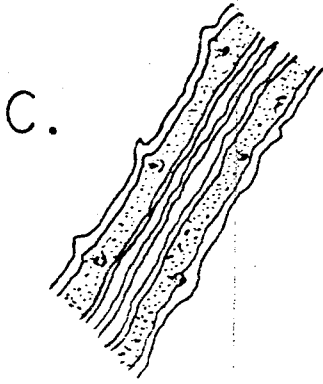
Semuga Allah membalas jasa baik mereka semua.

AMIN..

Tinospora crispa :

(PATAWALI)

- a. Bentuk daun Tinospora crispa
- b. Morfologi pokok Tinospora crispa
- c. Keratan membujur batang. (1 X)
- d. Keratan melintang batang. (2 X)



ABSTRAK

Kajian ini berdasarkan eksperimen yang dibuat terhadap haiwan-haiwan makmal, dan dengan ini, eksperimen seperti ini biasanya menunjukkan sedikit sebanyak kesan yang segera apabila dos-dos efektif tertentu telah digunakan terhadap tikus-tikus normal dan hipertensif. Sedangkan, perubahan klinikal adalah berkaitan dengan kesan-kesan yang dihasilkan dari dos-dos terapeutik Tinospora crispa terhadap manusia, dimana kesan itu biasanya hanya dapat dilihat setelah beberapa jam atau hari. Oleh yang demikian, segala maklumat yang diperolehi dari eksperimen ini memerlukan pengawalan dan pemerhatian-pemerhatian klinikal yang meluas.

Buku ini bertujuan untuk menerangkan fenomena yang melibatkan sebahagian dari sistem farmakologi didalam penggunaan pokok pemanjat, Tinospora crispa sebagai antihipertensif, antiobesiti dan anti-anoreksik sepertimana yang sering disarankan oleh kebanyakan pesakit-pesakit tempatan yang tinggal dikawasan luar bandar.

Kajian in vivo seperti ini pada keseluruhannya merangkumi skop-skop yang utama iaitu kesan Tinospora crispa terhadap a) tekanan darah rehat b) berat badan purata c) pengambilan makanan purata dan d) pengambilan air purata. Kepekatan sebanyak 480.2 mg/ml ekstrak kasar Tinospora crispa telah diperolehi dengan menggunakan pelarut air dan metanol. Walaubagaimanapun dos-dos sebanyak 4.0mg/ml, 8.0mg/ml dan 12.0mg/ml telah digunakan bagi maksud eksperimen ini.

Hasil yang didapati menunjukkan bahawa Tinospora crispa berpotensi memberikan penurunan terhadap tindakan parameter-parameter yang dikaji baik didalam tikus-tikus normal mahupun tikus hipertensif. Namun demikian, penurunan tekanan darah yang berlaku terhadap tikus-tikus normal adalah diperingkat yang sederhana dan tidak menunjukkan penurunan diluar julat

paras tekanan darah normal (95.0mmHg. - 130 mmHg.) walaupun dos Tinospora crispa telah dipertingkatkan ke paras yang lebih tinggi (12.0 mg/100gm. b.b.) . Penurunan tekanan darah rehat adalah jelas dilihat didalam tikus-tikus hipertensif dimana keadaan paras normal dicapai dengan beberapa dos 8.0 mg/100gm b.b. dan 12.0mg/100gm b.b. Namun demikian, kajian juga menunjukkan berlakunya peningkatan semula tekanan darah ke paras hipertensif setelah pemberian Tinospora crispa diberhentikan. Pengurangan didalam berat badan dan pengambilan makanan adalah selari dengan penggunaan Tinospora crispa sedangkan pengurangan pengambilan air purata hanya jelas dilihat dengan penggunaan dos-dos Tinospora crispa yang lebih tinggi. (8.0mg/100gm b.b. dan 12.0mg/100gm b.b.)

Berdasarkan keputusan yang didapati, saranan para pengguna 'Patawali' mungkin mempunyai dasar yang dapat diterima. Penurunan tekanan darah dan berat badan adalah satu efek yang sememangnya ada kaitan dengan kesan tonik yang pengguna-penggunanya mengharapakan. Walaubagaimanapun terdapat banyak isu-isu penting yang harus didalami sebelum pemakaian bahan ini di perluaskan. Untuk itu kajian-kajian serta maklumat mengenai mekanisme tindakan, keracunan dan kesan-kesan sampingan yang lebih ketara harus dihasilkan terlebih dahulu. Dalam pada itu, kajian menyeluruh dari segi sebatian-sebatian yang lebih murni diperlukan.

SENARAI KANDUNGAN

muka surat

1. PENGHARGAAN	i
2. MORFOLOGI <u>Tinospora crispa</u>	iii
3. ABSTRAK	iv
4. SENARAI HURUF SINGKATAN	viii
5. INDEKS DATA-DATA HASIL	ix
6. INDEKS GERAF DAN HISTOGRAM	x
7. PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
8. BAHAN DAN KAEDAH	
1.1 proses ekstraksi kasar <u>Tinospora crispa</u> ...	10
1.2 tatacara eksperimen	13
1.3 kaedah corak pemberian <u>Tinospora crispa</u> dan Beta-D-Tioglukos	16
1.4 protokol eksperimen fasa pertama	18
1.5 protokol eksperimen fasa kedua	20
9. HASIL	
1.1 peratus pemulihan proses ekstraksi <u>Tinospora crispa</u>	21
1.2 kesan suntikan I.P. <u>Tinospora crispa</u> terhadap perubahan tekanan darah rehat, berat badan, pengambilan makanan dan pengambilan air didalam...	
1.2.1 Kumpulan Pertama	29
1.2.2 Kumpulan Kedua	35
1.2.3 Kumpulan Ketiga	41
1.2.4 Kumpulan Keempat	47
1.2.5 Kumpulan Kelima	54
1.2.6 Kumpulan Keenam	60
1.2.7 Kumpulan Ketujuh	66

1.3 perbandingan perubahan tekanan darah rehat purata, berat badan purata, pengambilan makanan purata dan pengambilan air purata dikalangan kumpulan pertama sehingga ketujuh 72

1.4 perubahan tekanan darah rehat, berat badan purata, pengambilan makanan purata dan pengambilan air purata didalam tikus normal dan hipertensif sebelum dan selepas pemberian Tinospora crista 73

10. PERBINCANGAN DAN KESIMPULAN 85

11. APENDIK 93-1

12. SENARAI BAHAN RUJUKAN 104-

... @@@@@@@@@@@@@@0000000000000000@@@@@@@@@@@@@...

SENARAI HURUF SINGKATAN

b.b.	- berat badan
dl.	- desiliter
D-TG	- D - Tioglukos (β -D-Thioglucose Sodium Salt. Glucothiase(R), SIGMA, MW Anhydrous : 218.2)
i.i.	- iaitu
I.P.	- Intraperitoneum
Kump.	- Kumpulan
L	- Liter
mg.	- milligram
ml.	- milliliter
mmHg.	- millimeter raksa
mu.	- millimikron
N	- bilangan tikus
P.O.	- pemberian oral
S.C.	- Subkutan
<u>T.C.</u>	- <u>Trinospora crassa</u>

INDEKS DATA - DATA HASILmuka surat

- 1.1 Kesan Tinospora crispa terhadap tekanan darah rehat, berat badan purata, pengambilan makanan purata dan pengambilan air purata. 22 - 25
- 1.2 Ujian "Student's t" terhadap kumpulan pertama sehingga ketujuh. 26 - 27
- 1.3 Purata perubahan tekanan darah rehat, berat badan purata, pengambilan makanan dan pengambilan air. 28
- 1.4 Kesan ekstrak air Tinospora crispa terhadap tekanan darah rehat, berat badan, pengambilan makanan dan pengambilan air. 94 - 99
- 1.5 Perubahan tekanan darah rehat, berat badan, pengambilan makanan dan pengambilan air. 100

ooooooooo0000000ooooooooo

INDEKS GERAJ DAN HISTOGRAM

muka sura

GERAJ :

1.1	Tekanan darah rehat purata, berat badan purata, pengambilan makanan purata dan pengambilan air purata bagi	
1.1.1.	Kumpulan Pertama	32 - 33
1.1.2.	Kumpulan Kedua	38 - 39
1.1.3.	Kumpulan Ketiga	44 - 45
1.1.4.	Kumpulan Keempat	51 - 52
1.1.5.	Kumpulan Kelima	57 - 58
1.1.6.	Kumpulan Keenam	63 - 64
1.1.7.	Kumpulan Ketujuh	70 - 71

HISTOGRAM :

2.1	Tekanan darah rehat purata, berat badan purata, pengambilan makanan purata dan pengambilan air purata bagi	
2.1.1.	Kumpulan Pertama	34
2.1.2.	Kumpulan Kedua	40
2.1.3.	Kumpulan Ketiga	46
2.1.4.	Kumpulan Keempat	53
2.1.5.	Kumpulan Kelima	59
2.1.6.	Kumpulan Keenam	65
2.1.7.	Kumpulan Ketujuh	72
2.2	Darjah perubahan tekanan darah rehat purata bagi kumpulan pertama sehingga ketujuh.....	74
2.3	Darjah perubahan berat badan purata bagi kumpulan pertama sehingga ketujuh.....	75

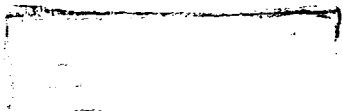
2.4 Darjah perubahan pengambilan makanan
purata bagi kumpulan pertama sehingga
ketujuh 76

2.5 Darjah perubahan pengambilan air purata
bagi kumpulan pertama sehingga ketujuh..... 77

2.6 Perubahan tekanan darah rehat purata,
berat badan purata, pengambilan makanan
purata dan pengambilan air purata didalam
tikus normal dan hipertensif sebelum dan
selepas pemberian Tinospora crispa 82 - 84

ooooooooo00000000ooooooooo

PENDAHULUAN



1

PENGENALAN :

Tinospora crispa , Miers

Sinonim;

Tinospora cordifolia

Tinospora tuberculata , Samad , Burkill.

Tinospora crispa adalah sejenis spesies tumbuhan dari famili Menispermaceae. Ia meliputi beberapa kawasan di Tropika seperti Asia Tenggara dan Afrika. Penyebarannya adalah meluas. Oleh yang demikian beberapa nama tempatan telah diberikan kepada Tinospora crispa dari tempat ke setempat seperti berikut :

- | | |
|-------------|---|
| Malaysia | - Akar Putarwali, Petawali ,
Batang wali, Akar Seruntun dan
Gasing-gasing . |
| Jawa | - Andawali, Antawali, Pratawali,
Putrawali dan Daun Gadel . |
| Sundanese | - Andawali . |
| Negeri Thai | - Chingcha chali dan Chungcha
ling tauma (Burkill, 1966). |

Morfologi pokok Tinospora crispa adalah sepertimana di muka surat 1 .

Ia adalah sejenis pokok pemanjat berkayu lembut. Batangnya adalah kasar, berbintil-bintil, bergetah putih dan kulitnya adalah tipis sehingga mudah dipisahkan. Daunnya berbentuk oval, lebar, lembut serta licin pada kedua belah permukaan. Sekali inbas dipandang hampir menyerupai daun sireh. Perbungaan jenis kauliflori dan bunganya sangat kecil serta berwarna hijau. Ianya menghasilkan buah jenis drup, panjang dan apabila masak memperlihatkan warna merah atau kuning berserta biji-biji yang licin. (Ridley, 1922 : Heli, 1981)

Genus *Tinospora* dikenali sebagai sejenis pokok yang boleh dijadikan ubat khususnya didalam perawatan tradisional. Mempunyai rasa pahit bila dimakan. Sebagai misalan, berikut adalah disenaraikan beberapa kegunaan yang lazim digunakan :

<u>Agan atau Jenis Penyakit</u>	<u>Cara Penggunaannya</u>
Agen Febrifuge (i.i. agen penurunan suhu)	: Air rebusan batang, daun dan akar diminum untuk mengubati demam diDutch Indies. Di Indo Cina, air rebusan dengan bahan lain digunakan.
Agen Vermifuge (i.i. agen penghapus cacing)	: Dikalangan orang Melay air rebusan dari batang diberi minum kepada orang dewasa, manakala disapi keatas perut untuk kanak-kanak.

<u>Agen atau Jenis Penyakit</u>	<u>Cara Penggunaannya</u>
Tam Agne dan Cacar.	: DiMalaysia dan Singapura seluruh bahagian pokok direbus dan diminum .
Gigitan Ular	: Air rebusannya digunakan untuk mencekutkan muntah.
Penyakit mata dan kudis sifilis	: Digunakan sebagai ubat sapu(i.i. untuk pemakaian luar) diMalaysia dan Indi
Batuk	: DiKelantan, batangnya di bakar sehingga menjadi ab dan disapu dibahagian, leher.
Kencing manis dan Darah tinggi.	: Air rebusannya diminum.

Senarai diatas menunjukkan bahawa Tinospora crispa digunakan juga didalam rawatan penyakit hipertensif dan kencing manis(Diabetis mellitus). Namun demikian publisiti nya masih tidak begitu meluas disebabkan kemungkinan penggunaannya adalah terhad hanya dipersekitaran perkampungan atau diluar bandar sahaja.

Berapa tahun yang lalu, usaha-usaha telah dijalankan bagi memulakan pengkajian mengenai kesan farmakoloji Tinospora tuberculata (Mohd. Shahini dan Syed Mohsin, 1979).

Kajian ini telah menunjukkan bahwa ekstrak batang Tinospora tuberculata mempunyai kesan antihipertensif yang lemah dan masa tindakannya adalah pendek. Tekanan darah tikus didapati berkurangan tetapi kesannya adalah lemah. Kontraktiliti jantung juga ditekan (depress) tetapi dengan kadar yang lemah juga. Kelemahan tersebut kemungkinan juga melibatkan corak pengestraksi itu di lakukan.

Didalam kajian mereka yang kedua, suntikan ekstrak air Tinospora tuberculata secara I.P. telah dibuat ke atas tikus yang telah diberikan bebanan glukos secara oral. Sebagai permulaan pengkajian tersebut, tikus ini telah dipuasakan selama 24 jam. Mereka kemudiannya memperbandingkan kesan ekstrak tersebut dengan tikus yang telah disuntikkan saline selaku tikus kawalan, dan membuat ujian toleransi glukos.

Mereka dapati bahawa tikus yang disuntikkan dengan Tinospora tuberculata berupaya merendahkan glukos dalam darah lebih cepat dari tikus kawalan. Walaubagaimapun mekanisme disebalik fenomena ini masih belum dapat dipastikan lagi. Besar kemungkinan ianya melibatkan metabolisme karbohidrat. Proses-proses penggunaan dan pembentukan glukos seperti glukoneogenesis, glikolisis, glikogenesis dan glikogenolisis mungkin mengalami peningkatan didalam penggunaannya dan penurunannya didalam pembentukan pada tahap yang tertentu. Hipotesis sedemikian tidak ketinggalan juga melibatkan tindakan melalui

peningkatan dalam penyerapan glukos ke dalam tisu-tisu periferi atau peningkatan di dalam pembebasan insulin secara aktif.

Seperkara yang menarik perhatian ialah semua tikus yang diberi makanan Tinospora tuberculata ini mengalami penurunan berat badan. Seandainya penurunan berat badan ini keterlaluan, kesan ini bolehlah diibaratkan sebagai salah satu kesan sampingan bahan ubat itu yang boleh dikaitkan juga dengan proses metabolisme karbohidrat. Kepada pesakit-pesakit yang mengalami obesiti ('over weight') kesan sedemikian berkemungkinan mempunyai potensi klinikal yang baik.

Kencing manis (Diabetes mellitus) merupakan sejenis penyakit yang berpunca dari kegagalan insulin berfungsi dengan normal. Antara lain-lain faktor yang boleh bawa kepada terjadinya Diabetes mellitus ialah :

- i. Terdapat faktor-faktor tertentu yang merencat atau menghalang tindakan insulin di dalam darah.
- ii. Kadar penghasilan insulin yang tidak normal iaitu kurang dari julat paras normal insulin dalam darah. (10mu/L - 50mu/L)
- iii. Terdapat penyakit atau kerosakan hati dan fungsi endokrin.
- iv. Ketidakupayaan organ pankreas mengeluarkan insulin yang cukup.
- v. Penyakit genetik.

Pada keseluruhannya, terdapat kandungan gula dalam air kencing pesakit Diabetes millitus serta hiperglisemia yaitu kepekatan glukos plasma melebihi julat 70mg/dl - 170mg/dl. Penyakit ini mengakibatkan berkurangnya kandungan gula di dalam tisu-tisu otot dan adipos. Pada tisu-tisu yang sensitif pada insulin, kehabisan penggunaan glukos akan terjadi dan ini mendorong kepada metabolisme tenaga dari lemak dan protin melalui proses glukoneogenesis. Akibatnya penghasilan banyak badan-badan keton yang toksik seperti asetoasetik, aseton dan Beta-hidroksi butirik asid yang merupakan asid-asid kuat dan seterusnya membentuk keadaan yang dipanggil 'acidosis'.

Diabetes millitus tidak boleh dihapuskan sama sekali dan memerlukan rawatan kronik atau terapi yang lama. Biasanya berlaku pada individu yang berumur dan gemuk. Dadah yang digunakan terutama sekali jenis 'insulin dependent' seperti sulfonilurea dan biguanid perlu diberi selalu. Walaubagaimanapun, terdapat laruan yang menyatakan bahawa penggunaan sulfonilurea masih lagi kontraversial (Feinglos dan Lebovitz, 1980) Banyak persoalan berkisar pada keselamatan dan efikasinya untuk jangka masa yang panjang (Feinglos dan Lebovitz, 1980). Oleh yang demikian, potensi yang ada pada Tinosprocrispa bersama-sama dengan kajian yang mendalam mengenainya khusus di dalam peranannya sebagai suatu agen antidiabetik adalah besar.

Istilah 'antihipertensif' pada suatu agen melibatkan bahan-bahan yang mana adalah aktif secara klinikal di dalam menurunkan tekanan darah yang tinggi secara kronik disamping ianya berguna secara terapeutik. Pemilihan agen-agen yang aktif secara klinikal yang telah diambil untuk kegunaan didalam rawatan pesakit-pesakit hipertensif tidak berdasarkan ujian-ujian kronik haiwan hipertensif secara farmakologi tetapi berdasarkan pemerhatian didalam tindakan bahan itu terhadap haiwan normotensif. Semenjak penemuan agen antihipertensif yang pertama, pengalaman telah menunjukkan bahawa aktiviti penurunan tekanan darah oleh sebahagian agen antihipertensif tidak boleh diramalkan dengan hanya pemerhatian-pemerhatian didalam haiwan-haiwan normotensif

Satu soalan timbul pada takad ini iaitu menggariskan perbezaan yang jelas diantara tekanan darah hipertensif dan bukan hipertensif. Didalam had-had tertentu sekurang-kurangnya, pemilihan tekanan darah 'kritikal' mesti dikekalkan sebagai nilai 'arbitrary' jika hendak dimulakan. Di dalam tikus-tikus normotensif, paras tekanan darah yang direkodkan pada ekor oleh kaedah plethysmografik oleh WILLIAM et al. (1939) dimana ianya berubah diantara 100 dan 130 mmHg didalam tikus betina, purata ialah 116 ± 9 mmHg

dan diantara 95 dan 130 mmHg didalam tikus jantan (purata ialah 112 ± 9 mmHg). Paras tekanan darah sebanyak 160mmHg atau lebih adalah dinyatakan sebagai indikasi hipertensi (BEIN et al., 1957).

Kesan utama bagi semua agen hipertensif yang aktif secara klinikal ialah pengurangan rintingan periferi. Penegurangan ini boleh berlaku oleh berbagai mekanisme dimana salah satu daripadanya ialah didalam penghalangan aktiviti sistem saraf simpatetik.

Dari tinjauan diatas, matlamat projek ini dijalankan lebih mirip kesan Tinospora crispa terhadap metabolisme karbohidrat dan spekulasi biokimia sistem saraf simpatetik. Projek ini dijalankan menerusi beberapa fasa :

Fasa i. - Mendapatkan ekstrak air dari batang Tinospora crispa.

Fasa ii.- (a) Mengkaji Tinospora crispa sebagai agen antianokreksik terhadap tikus yang disuntik D-Tioglukos.

(b) Kesan rawatan kronik terhadap tekanan darah tikus jantan dengan menggunakan Kaedah 'Tail Cuff'.

Fasa iii- Mengkaji kesan Tinospora crispa sebagai agen antihipertensif terhadap tikus-tikus hipertensif yang spontan.

Projek ini bertujuan untuk mengulangi kajian yang telah dijalankan oleh Mohd. Shahimi Mustapha dan Syed Mohsin Shahil (1979) tetapi ianya berbeza dari segi penggunaan drug D-Tioglukos, batang Tinospora crispa (terdahulu dari ini daun T.C.) dan kajian-kajian yang berhubung dengan kadar pengambilan makanan, minuman (air), obesiti dan tekanan darah tinggi.

Didalam projek ini kaedah yang sama telah digunakan untuk mengetahui beberapa perkara seperti :-

- i. Adakah Tinospora crispa dapat mengurangkan berat badan tikus yang obes setelah disuntik dengan Tioglukos.
- ii. Kesan Tinospora crispa terhadap tekanan darah rehat pada tikus normal, tikus obes dan tikus hipertensif.
- iii. Bagaimana hubungan kesan Tinospora crispa terhadap kadar pengambilan makanan dan minuman (air) dengan berat badan tikus.
- iv. Apakah kesan yang dapat diperhatikan dari penggunaan Ekstrak air Tinospora crispa serentak dengan D-Tioglukos terhadap perubahan berat badan tikus.

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN DAN KAEDAH

- 1 . Projek ini dibahagikan kepada 4 bahagian iaitu :
 - 1.1 Proses ekstraksi kasar Tinospora crispa .
 - 1.2 Penginduksian obesiti pada tikus-tikus ujian dengan D-Thioglukos..
 - 1.3 Suntikan Tinospora crispa pada tikus-tikus ujian secara Intraperitoneum (I.P.)
 - 1.4 Pengukuran tekanan darah tikus secara Kaedah 'Tail Cuff'.
 - 1.5 Pengukuran berat badan tikus, pengambilan makanan dan pengambilan minuman.

- 2 . Proses Ekstraksi Kasar Tinospora crispa :
 - 2.1 Batang Tinospora crispa dikerat, dikeringkan dan dihancurkan sehingga menjadi serbuk dengan menggunakan alat pengisar tangan.
 - 2.2 Sebanyak 200g serbuk ini dimasukkan ke dalam bikar 3000ml.
 - 2.3 1500ml. air kemudiannya ditambahkan dan campuran ini dipanaskan didalam mandian air bersuhu 50^o C selama 30 - 60 minit.
 - 2.4 Ekstrak kasar Tinospora crispa ini dimasukkan kedalam kain linen dan diperah untuk mendapatkan larutan ekstrak tersebut.
 - 2.5 Kepada larutan ekstrak tersebut, larutan tepu Plumbum Asetat (PbOac) ditambahkan untuk memendatkan bahan protein dan karbohidrat.

- 2.6 Larutan tepu Plumbum Asetat kemudiannya di tambahkan dengan berlebihan sehingga tiada lagi mendakan protin dan kanji.
- 2.7 Penurasan dilakukan bagi mendapatkan larutan jernih berwarna jingga(i.i. Turasan I).
- 2.8 Kepada turasan ini, ditambahkan larutan tepu Ammonium Sulfat untuk memendakkan ion Plumbum (Pb^{2+}) yang berlebihan. Larutan tepu Ammonium Sulfat seterusnya ditambahkan dengan berlebihan sehingga tiada mendakan lagi.
- 2.9 Penurasan dijalankan sekali lagi untuk mengasingkan mendakan putih Plumbum Sulfat. Turasan jernih berwarna jingga. cerah diperolehi.
(i.i Turasan II)
- 2.1.0 Turasan II diwapkan sehingga kering dengan menggunakan vakum separa pada suhu $50^{\circ}C$ oleh alat Pengwapkan Rotary berjenis Rotavapor Re Hamberg Reikermann, Germany. Pengwapkan tersebut menibggalkan jisim cokelat dan hablur putih.
- 2.1.1 Sebanyak 2000ml. metanol ditambahkan untuk melarutkan jisim cokelat tersebut bagi meninggalkan hablur putih yang tidak larut.
- 2.1.2 Penurasan selanjutnya dilakukan bagi mengasingkan hablur-hablur. Turasan jernih berwarna jingga diperolehi (Turasan III) .

- 2.1.3 Turasan III diwapkan pada suhu 50° C dibawah vakum spara sehingga kering. Ekstrak Tinospora crispa yang dikehendaki diperolehi.
- 2.1.4 Ekstrak Tinospora crispa dicari kepekatannya seperti berikut :
- a. 0.1ml. ekstrak Tinospora crispa dititiskan ke atas slaid kaca yang sudah ditimbangkan.
 - b. Slaid kaca bersama ekstrak tersebut dipanas kan.. didalam oven selama 2 jam.
 - c. Proses tersebut diulangi beberapa kali bagi mendapatkan nilai kepekatan purata.

3. Tatacara :

3.1 Haiwan Ujikaji -

Sebanyak empat puluh dua (42) ekor tikus jantan albino (Rattus rattus ardi) digunakan pada awalan ujikaji ini. Berat setiap ekor tikus tersebut berjulat diantara 100 - 250 gm. Kesemua tikus itu telah dibahagikan secara rawak kepada tujuh (7) kumpulan yang diberi nama Kumpulan 1, Kumpulan 2, Kumpulan 3, Kumpulan 4, Kumpulan 5, Kumpulan 6 dan Kumpulan 7. Setiap kumpulan tersebut mengandungi enam (6) ekor tikus. Sangkar-sangkar yang mengandungi tikus-tikus tersebut diletakkan didalam bilik bersuhu $30^{\circ} \pm 5^{\circ}$ Celsiusserta bercahaya matahari. Makanan dan minuman diberikan pada setiap hari. Untuk mengelakkan sebarang kekeliruan terhadap tikus-tikus yang telah diuji, tanda-tanda tertentu dilakukan pada cuping telinga tikus dengan memotong sebahagian kecil dari cuping telinga tikus itu.

3.2 Kaedah Pengukuran -

- a. Pengukuran Tekanan Darah.
- b. Pengukuran Berat-Berat Badan.
- c. Pengukuran Pengambilan Makanan dan Minuman.

3.3 Pengukuran Tekanan Darah Sistolik -

Tekanan darah sistolik disukatkan pada tikus-tikus yang tidak dibiuskan dengan menggunakan Kaedah 'Tail Cuff', dimana 'transducer' denyutan diletakkan pada ekor tikus tersebut.

Pengukuran seperti ini dapat dilakukan dengan menggunakan Elektro-sphygmomanometer PE 300 dan Physiograph CPH yang telah diprogramkan dan di kalibrasikan (Marco Bio System Inc. Houston, Texas.). Setiap tekanan darah yang disukatkan dilakukan pada kadar selang dua hari. Pengukuran tersebut hanya di buat pada waktu malam bagi mendapatkan keadaan rehat tikus yang baik.

3.4 Pengukuran Berat Badan Tikus -

Kesemua 42 ekor tikus ujikaji tersebut ditimbang dari awal permulaan penyelidikan sehingga ke peringkat akhir penyelidikan. Penimbangan itu dilakukan pada kadar selang dua hari dengan menggunakan alat timbang berjenis Triple Beam Balance Model 700 (CHAUSS). Timbangan ini juga dibuat pada waktu malam bagi mengelakkan pergerakan aktif tikus yang boleh mempengaruhi nilai timbangan berat badan tikus tersebut.

3.5 Pengukuran Pengambilan Makanan dan Minuman Tikus -

Pengukuran pengambilan makanan dan minuman telah dibuat secara purata didalam satu sangkar kumpulan tikus sebanyak enam ekor. Pengukuran ini tidak dapat dilakukan secara individu disebabkan masalah kekurangan sangkar tikus bagi kegunaan individu tikus. Pengukuran pengambilan makanan dan minuman tikus dapat dilakukan dengan memberi sejumlah

makanan dalam gram dan sejumlah minuman dalam ml. yang telah ditetapkan. Ini bernakna berat makanan dan isipadu minuman awalan diketahui. Minuman yang diberi pada tikus-tikus tersebut adalah air. Pemberian ini dilakukan pada waktu malam (tidak ada sebab-sebab yang khusus dipilih masa tersebut) dan masa permulaan pemberian itu dicatitkan. Jarak masa pemberian makanan dan minuman itu telah ditetapkan selama sebelas jam selama ujikaji ini dijalankan. Keesokan harinya sekali lagi berat makanan ditimba dan isipadu minuman disukat untuk mendapatkan nilai akhiran. Dengan itu berat makanan dan isipadu minuman yang diambil oleh sekumpulan tikus-tikus itu dalam jangka masa sebelas jam diperolehi. Timbangan berat makanan dilakukan dengan menggunakan alat penimbangan Triple Beam Balance Model 700 (CHAUS) manakala isipengambilan air disukat dengan menggunakan alat isipenyukat.

4. Kaedah Pemberian Ekstrak Tinospora crispa dan D-Tioglukos.

Pada peringkat Fasa Pertama, untuk selama enam hari, kesemua tikus di dalam ketujuh-tujuh kumpulan tersebut ditimbang dan tidak disuntik atau diberi ekstrak Tinospora crispa serta D-Tioglukos(SIGMA). Hari ketujuh pula sehingga ke dua belas hanya tikus-tikus dari kumpulan 2,3,4 dan 6 sahaja disuntik dengan ekstrak Tinospora crispa secara I.P. Dos yang telah digunakan ialah 0.1 ml/100gm b.b.(i.i. 4.0mg/100gm b.b.) Pada kumpulan 4, tikus-tikus tersebut disuntik pula dengan D-Tioglukos sebanyak 200mg/ml(i.i. 0.1ml/100 gm. b.b.) secara S.C.

Hari-hari berikutnya iaitu hari ke 15 sehingga ke 21, dos Tinospora crispa dipertingkatkan sebanyak 0.2ml/100gm b.b.(i.i. 8.0mg/100gm b.b.) manakala suntikan D-Tioglukos ditetapkan pada 200mg/ml(i.i. 0.1ml /100gm b.b.) Suntikan Tinospora crispa dalam dos yang meningkat dan dos D-Tioglukos yang ditetapkan dilakukan kepada kumpulan-kumpulan tikus yang sama seperti diatas. Pada hari ke 22 sehingga ke 27, dos Tinospora crispa dipertingkatkan lagi sebanyak tiga kali ganda dos asal(0.3ml/100gm b.b. i.i. 12.0mg/100gm.b.b.). Suntikan dos D-Tioglukos dikedalkan. Suntikan Tinospora crispa (12.0mg/100gm b.b.) dan D-Tioglukos(200mg/100gm b.b.) dilakukan pada tikus-tikus yang sama. Setiap suntikan -suntikan tersebut dibuat selang sehari.

HADIAH

Pada peringkat Fasa Kedua pula, kumpulan-kumpulan yang telah diberi Tinospora crissa pada peringkat Fasa Pertama diberhentikan pemberiannya. Manakala kumpulan yang belum atau tidak disuntikkan T.C. pada peringkat Fasa Pertama, disuntikkan dengan ekstrak tersebut dengan dos 8.0mg/100gm b.b. (i.i. 0.2ml/100gm b.b.) sebagai dos efektif hasil dari pemilihan diantara dos 4.0mg/100gm b.b. dan 12.0mg/100gm b.b. didalam peringkat Fasa Pertama. Suntikan tersebut dilakukan secara I.P dan ianya melibatkan hanya tikus-tikus dari Kumpulan 1,5 dan 7 sahaja. Tikus-tikus dalam Kumpulan 4 diberhentikan suntikan T.C. manakala suntikan D-Tioglukes dalam dos yang sama masih dikekalkan. Bagi tikus-tikus didalam kumpulan 5, suntikan D-Tioglukes (200mg/ml) diberhentikan sedangkan suntikan 8.0mg/100gm b.b. T.C. secara I.P. dimulakan. Kesemua suntikan itu bermula dari hari ke 28 sehingga hari ke 4 dengan kadar selang sehari.

5. Protokol Percubaan :

Pada keseluruhan ujikaji ini, ianya melibatkan dua Fasa yang dinamakan Fasa Pertama dan Fasa Kedua. Fasa Pertama memakan masa selama 27 hari manakala Fasa Kedua memakan masa 15 hari. Protokol percubaan adalah disimpulkan didalam Lampiran .

LAMPIRAN

:PROTOKOL PERCUBAAN - Fasa Pertama.

Bil. hari	KUMPULAN						
	1	2	3	4	5	6	7
0-3	pengukuran tekanan darah rehat serta						
3-6	penimbangan berat badan tikus						
6-9	tiada rawat.	4mg/ml <u>T.C.</u>	4mg/ml <u>T.C.</u>	4mg/ml <u>T.C.</u>	100mg/ml D-TG. + 100mg/ml D-TG.	4mg/ml <u>T.C.</u>	-
9-12	-	4mg/ml <u>T.C.</u>	4mg/ml <u>T.C.</u>	4mg/ml <u>T.C.</u>	100mg/ml D-TG. + 100mg/ml D-TG.	4mg/ml <u>T.C.</u>	-
12-15	-	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	100mg/ml D-TG. + D-TG.	8mg/ml <u>T.C.</u>	-
15-18	-	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	100mg/ml D-TG. + 100mg/ml D-TG.	8mg/ml <u>T.C.</u>	-
18-21	-	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	8mg/ml <u>T.C.</u>	100mg/ml D-TG. + 100mg/ml D-TG.	8mg/ml <u>T.C.</u>	-

Bil hari	Kumpulan					
	1	2	3	4	5	6
21-24	-	12mg/ml <u>T.C.</u>	12mg/ml <u>T.C.</u>	12mg/ml <u>T.C.</u> + 100mg/ml D-TG.	100mg /ml. D-TG.	12mg/ml <u>T.C.</u>
24-27	-	12mg/ml <u>T.C.</u>	12mg/ml <u>T.C.</u>	12mg/ml <u>T.C.</u> + 100mg/ml D-TG.	100mg /ml. D-TG.	12mg/ml <u>T.C.</u>

Catitan :

Kumpulan 1 - Tikus normal sebagai kawalan untuk Kumpulan 2 dan 3.

Kumpulan 2 - Tikus normal + Tinospora crispa(I.P.)

Kumpulan 3 - Tikus normal + Tinospora crispa(ora

Kumpulan 4 - Tikus diberi D-Tioglukos(S.C.) + Tinospora crispa.

Kumpulan 5 - Tikus yang diberi hanya D-Tioglukos (S.C.) sebagai kawalan Kumpulan 4.

Kumpulan 6 - Tikus hipertensif spontan + Tinospora crispa(I.P.)

Kumpulan 7 - Tikus hipertensif spontan sebagai kawalan untuk Kumpulan 6.

LAMPIRAN 5.1

:PROTOKOL PERCUBAAN -Fasa Kedua

Bil. hari	KUMPULAN						
	1	2	3	4	5	6	7
27-30	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>
30-33	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>
33-36	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>
36-39	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>
39-42	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>
42-45	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	-	100mg/ml D-TG	8mg/ml <u>T.C.</u>	-	8mg/ml <u>T.C.</u>

Catitan:

Kumpulan 1 -Tikus normal + Tinospora crispa(I.P)Kumpulan 2 -Tikus normal suntikan Tinospora crispa I.P. telah diberhentikan.Kumpulan 3 -Tikus normal pemberian Tinospora crispa secara oral diberhentikan.Kumpulan 4 -Tikus normal + D-Tioglukos(Suntikan I.P.Tinospora crispa diberhentikan.Kumpulan 5- Tikus normal + Tinospora crispa (Suntikan D-Tioglukos diberhentikan)Kumpulan 6 -Tikus hipertensif diberhentikan suntikan I.P. Tinospora crispa.Kumpulan 7 -Tikus hipertensif +Tinospora crispa.

HASIL

6. Hasil Proses Ekstaksi Tinospora crispa :

Proses ekstraksi tersebut menghasilkan larutan jernih seperti sirap berwarna coklat tua serta mempunyai bau yang kurang menyenangkan. Ekstrak itu agak likat dan mempunyai rasa yang pahit, payau serta mual.

Kepekatan ekstrak Tinospora crispa yang telah dihasilkan ialah sebanyak 480.2 mg/ml. untuk 10ml. larutan.

Peratus pemulihan dikira seperti berikut :

Jumlah bahan ekstrak didalam 10 ml.

= 4802 mg.

Berat serbuk yang digunakan

= 200 000 mg.

% pemulihan = $\frac{4802}{200\ 000} \times 100$

= 2.4 %

Untuk kegunaan eksperimen, ekstrak air Tinospora crispa 480.2 mg/ml telah dicairkan sebanyak 10 kali bagi mendapatkan kepekatan sebanyak 48.0mg/ml. (Dos ini adalah berdasarkan kajian awal yang telah dilakukan oleh Wardah bt. Hj. Zainal Abidin didalam tesisnya pada tahun 1982.)

JADUAL 6.1 MENUNJUKKAN KESAN Tinospora crispa TERHADAP PARAMETER - PARAMETER YANG DIKAJI BAGI KUMPULAN PERTAMA SEHINGGA KETUJUH.

i. KUMPULAN PERTAMA - N = 6 *

	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
Kepekatan <u>T.C.</u>	tiada				8mg/ml		
Parameter							
tekanan darah rehat	27 hari 120.6 ± 5.41				18 hari 114.5 ± 4.09		
berat badan purata	a 206.0± 14.05	b 214.0± 11.98	c 219.3± 11.04	d 222.2 ±11.1	e 226.4 ±11.2	f 220.1 ±10.9	g 213.6 ±12.0
pengambilan makanan purata	a 12.50	b 10.40	c 10.85	d 10.40	e 11.70	f 9.55	g 7.50
pengambilan air purata	a 20.40	b 22.90	c 23.20	d 18.75	e 21.25	f 18.35	g 16.67

i.i. KUMPULAN KEDUA - N = 4

	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
Kepekatan <u>T.C.</u>	tiada	4.0 mg/ml	8.0 mg/ml	12.0 mg/ml	pemberian <u>T.C.</u> diberhentikan		
Parameter							
tekanan darah rehat	125.0 ±3.53	118.2 ±6.10	110.4 ±4.20	112.5 ±4.18	111.6 ±5.33	120.1 ±2.77	125.0 ±3.53
berat badan purata	216.3 ±16.15	224.3 ±14.20	226.2 ±13.81	224.2 ±14.79	257.8 ±15.1	273.9 ±15.7	286.9 ±15.0
pengambilan makanan purata	13.50	10.50	10.00	9.85	10.50	13.00	13.50
pengambilan air purata	25.00	20.00	22.00	20.00	20.00	21.00	22.00

iii. KUMPULAN KETIGA - N = 6

Kepekatan <u>T.C.</u>	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
	tiada	4.0 mg/ml	8.0 mg/ml	12.0 mg/ml	pemberian <u>T.C.</u> diberhentikan		
Parameter							
tekanan darah rehat	115.6 ±5.49	117.1 ±7.32	105.0 ±1.07	102.8 ±4.18	108.3 ±4.49	117.5 ±4.44	118.8 ±4.57
berat badan purata	199.1 ±8.67	201.8 ±9.05	204.2 ±7.88	202.7 ±6.81	204.2 ±6.50	208.9 ±6.25	214.4 ±4.57
pengambilan makanan purata	10.40	8.30	9.13	7.3	9.13	10.40	11.60
pengambilan air purata	20.00	17.05	17.03	12.05	16.65	20.4	21.60

iv. KUMPULAN KEEMPAT - N = 6

Kepekatan <u>T.C.</u>	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
	tiada	4.0 mg/ml	8.0 mg/ml	12.0 mg/ml	pemberian <u>T.C.</u> diberhentikan		
Kepekatan D-TG.	tiada	pemberian dos		kekal	100mg/ml D-TG.		
Parameter							
Tekanan darah rehat	119.5 ±5.31	112.9 ±3.70	104.4 ±2.47	106.7 ±1.16	106.0 ±1.92	115.9 ±3.95	120.5 ±4.30
berat badan purata	171.1 ±9.37	180.0 ±12.6	182.9 ±10.5	178.9 ±12.0	178.7 ±7.71	182.3 ±10.2	186.8 ±10.3
pengambilan makanan purata	10.40	8.30	8.03	7.29	7.90	8.73	10.80
pengambilan air purata	21.65	16.20	17.17	15.65	17.45	18.30	20.80

v. KUMPULAN KELIMA - N = 6

	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
Kepekatan <u>T.C.</u>	tiada				8mg/ml		
Kepekatan D-TG.	tiada	100mg/ml			pemberian D-TG. diberhentikan		
Parameter							
tekanan darah rehat	a 132.3 ±6.88	b 121.2 ±3.18	c 122.5 ±4.00	d 121.9 ±3.50	e 121.2 ±3.70	f 116.3 ±3.90	g 111.3 ±2.15
berat badan purata	194.1 ±11.4	204.8 ±10.5	208.8 ±9.60	211.6 ±9.11	218.3 ±10.2	213.7 ±7.14	204.2 ±9.83
pengambilan makanan purata	7.90	8.30	9.13	9.60	8.75	7.50	5.40
pengambilan air purata	17.05	16.70	17.80	16.70	17.50	17.50	15.40

vi. KUMPULAN KEENAM - N = 2

	Fasa Pertama				Fasa Kedua		
Kepekatan <u>T.C.</u>	tiada	4.0 mg/ml	8.0 mg/ml	12.0 mg/ml	pemberian <u>T.C.</u> diberhentikan		
Parameter							
tekanan darah rehat	193.8 ±6.25	163.8 ±27.8	111.7 ±8.33	115.0 ±10.0	118.5 ±6.25	132.5 ±12.3	175.0 ±12.5
berat badan purata	253.8 ±51.3	257.9 ±52.8	259.7 ±53.9	258.7 ±52.3	257.8 ±50.4	261.9 ±50.4	264.3 ±51.1
pengambilan makanan purata	16.75	15.05	11.73	7.80	8.40	10.90	12.55
pengambilan air purata	24.05	28.25	24.50	12.00	15.95	26,85	29.35