

REVIEW
INTERAKSI BIOLOGIS KOMPONEN PANGAN

**Efek Sinergis Interaksi Vitamin B Dengan Ekstrak *Rhodiola rosea*
Sebagai Antinosiseptif (Pereda Rasa Nyeri)**



Oleh:
Rizki Maryam Astuti

PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
UNIVERSITAS BAKRIE
JAKARTA
2023

DAFTAR ISI

	Halaman
1. PENDAHULUAN	1
2. METODE PENELITIAN	2
2.1. Efek Antinosiseptif	2
2.2. Mekanisme Antinosiseptif	2
2.3. Analisis Isobogram Untuk Mengukur Interaksi	3
3. HASIL PENELITIAN	4
3.1. Efek Antinosiseptif Dari Ekstrak <i>Rhodiola rosea</i>	4
3.2. Efek Antinosiseptif Dari Vitamin B	5
3.3. Efek Antinosiseptif Dari Ekstrak <i>Rhodiola rosea</i> Dan Vitamin B	5
4. MEKANISME ANTINOSISEPTIF VITAMIN B DAN EKSTRAK <i>Rhodiola rosea</i>	7
5. KESIMPULAN	14
DAFTAR PUSTAKA	15

1. PENDAHULUAN

Rhodiola rosea, yang dikenal sebagai akar emas (Gambar 1), merupakan tanaman yang sudah lama digunakan sebagai herbal di Negara-negara Eropa dan Asia untuk membantu tubuh dalam mengobati gangguan kelelahan, stress, dan depresi.



Gambar 1. Tanaman *Rhodiola rosea*

Sumber: <https://www.lacureindonesia.com/4-fakta-rhodiola-rosea-si-polar-rose-rahasia-kecantikan-khas-eropa/>

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak tanaman *Rhodiola rosea* memiliki aktivitas seperti antidepresi, antiinflamasi, anti nyeri (antinosiseptif), antioksidan, dan *anxiolytic* (meredakan kecemasan). Sebanyak 140 senyawa telah diisolasi dari akar tanaman ini, dan telah dikelompokkan kedalam beberapa kelompok senyawa seperti monoterpen, feniletanoid, fenilpropanoid, flavonoid, aril glikosida, proantosianidin, dan senyawa turunan dari asam galat. Senyawa turunan dari fenilpropanoid (seperti rosavin) dan feniletanoid (seperti salidroside) merupakan senyawa yang memiliki bioaktivitas yang paling tinggi dari ekstrak akar *Rhodiola rosea*. Aktivitas antinosiseptif dari ekstrak *Rhodiola rosea* sudah diuji oleh Montiel-Ruiz *et al.* pada penelitian sebelumnya di tahun 2012.

Selain senyawa bioaktif, vitamin B juga memiliki aktivitas antinosiseptif. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa vitamin B₁, B₂, B₆ dan B₁₂ memiliki fungsi sebagai antinosiseptif, antihiperalgisik, dan antialodinik. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka Montiel-Ruiz *et al.* (2013) melakukan penelitian dengan mengkombinasikan antara ekstrak

Rhodiola rosea dengan vitamin B, untuk melihat apakah keduanya dapat berinteraksi dalam menurunkan sensitivitas terhadap stimulus nyeri (antinosiseptif).

2. METODE PENELITIAN

2.1. Efek Antinosiseptif

Montiel-Ruiz *et al.* (2013) menguji efek sinergistik ekstrak *Rhodiola rosea* maupun vitamin B secara *in vivo* menggunakan tikus percobaan dan dilakukan secara oral. Dosis ekstrak *Rhodiola rosea* yang digunakan sebesar 10-177 mg/kg, vitamin B₁ (thiamin) sebesar 30-707 mg/kg, vitamin B₂ (riboflavin) sebesar 1-100 mg/kg, B₆ (piridoksin) sebesar 30-707 mg/kg, B₁₂ (sianokobalamin) sebesar 1-177 mg/kg, dan campuran B₁+B₆+B₁₂ sebesar 30-562 mg/kg. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol yang mengandung 2,7% rosavin dan 2,5% salidroside.

Untuk menguji efek antinosiseptif, digunakan tikus yang diinduksi oleh formalin. Setiap kelompok tikus (masing-masing kelompok tikus terdiri dari 6 ekor) diberikan secara oral dengan ekstrak *Rhodiola rosea*, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₆, vitamin B₁₂, campuran vitamin B₁+B₆+B₁₂ atau ekstrak *Rhodiola rosea* yang dikombinasikan dengan masing-masing vitamin B atau campuran vitamin B. Lima belas menit kemudian, setiap tikus diinjeksi dengan formalin 2% sebanyak 20 µL pada kaki kanan bagian belakang secara subkutan. Setelah 5 menit injeksi, respon diamati, yaitu frekuensi tikus dalam menjilati bekas injeksi dihitung (*licking time*). Respon diamati dalam 2 fase. Fase 1 adalah respon dalam 10 menit pertama, dan fase 2 adalah respon dalam waktu 30 menit berikutnya. Untuk kontrol, ekstrak *Rhodiola rosea* diganti dengan 0,5% Tween-80 dalam larutan garam (0,9% w/v).

2.2. Mekanisme Antinosiseptif

Beberapa penelitian melaporkan bahwa efek antinosiseptif beberapa senyawa bioaktif yang telah diteliti berhubungan dengan sintesis dan sekresi serotonin dan noradrenalin di otak, penekanan (supresi) aktivitas nosiseptif di level *spinal cord*, pelepasan opioid dan aktivasi reseptor opioid, *nitric oxide/cGMP pathway* dan reduksi potensial melalui Na⁺ *channel* oleh reseptor tetrodotoksin. Oleh karena itu, dalam mempelajari mekanisme antinosiseptif dari ekstrak *Rhodiola rosea* dan vitamin B ini, digunakan beberapa pereaksi sebagai berikut:

1. Flumazenil sebanyak 5 mg/kg → antagonis reseptor GABA_A/BDZ (*γ-aminobutyric acid/Benzodiazepine*)

2. WAY100635 sebanyak 0,16 mg/kg → antagonis reseptor serotonin 5-HT_{1A}
3. Naltrexone sebanyak 1 mg/kg → antagonis reseptor opioid

Untuk melihat kemungkinan mekanisme antinosiseptif terjadi melalui *nitric oxide pathway*, digunakan senyawa-senyawa sebagai berikut:

1. SIN-1 (linsidomin) sebanyak 10 mg /kg → donor elektron untuk NO
2. L-NAME (N^G-nitro-L-arginin metil ester) sebanyak 10 mg/kg → inhibitor NO sintase
3. ODQ (1H-[1,2,4]Oxidiazol[4,2- α]quinoxalin) sebanyak 1 mg/kg → inhibitor enzim *soluble guanylyl cyclase* (sGC)
4. Glibenclamide sebanyak 1 mg/kg → bloker ATP-sensitive K⁺-channels

Senyawa-senyawa tersebut diinjeksikan secara subkutan. Lima belas menit kemudian, tikus diberikan ekstrak *Rhodiola rosea* dan kombinasinya dengan vitamin B sebanyak 81 mg/kg BB secara oral. Dan 15 menit kemudian tikus diinjeksi dengan formalin 2% sebanyak 20 μ L.

2.3. Analisis Isobologram Untuk Mengukur Interaksi

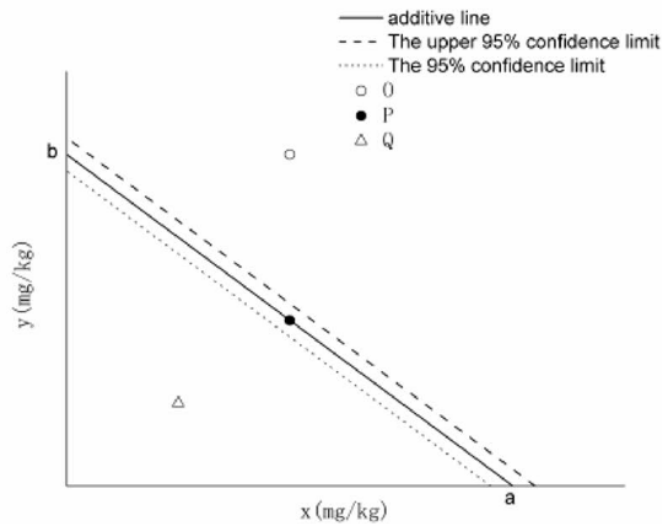
Isobologram diperoleh dari nilai ED₃₀, yaitu dosis yang efektif untuk memperoleh 30% peningkatan respon (antinosiseptif) dibanding kontrol dari obat (dalam hal ini adalah ekstrak *Rhodiola rosea*, vitamin B, serta kombinasinya). Nilai *theoretical additive dose* (Zadd) setiap kombinasi dihitung secara teoritis dari nilai ED₃₀ masing-masing obat yang diberikan secara tunggal (tanpa kombinasi), dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Zadd = fA + (1-f)B$$

Dimana A adalah ED₃₀ untuk ekstrak *Rhodiola rosea* dan B adalah ED₃₀ untuk vitamin B. Setelah perhitungan, diperoleh *f* sebesar 0,5 dan (1-*f*) sebesar 0,5. Zadd menunjukkan *total additive dose* dari obat, yang secara teoritis menunjukkan 30% pengurangan jumlah respon dibanding kontrol. *Experimental dose* (Zexp) adalah total dosis dari campuran obat yang diberikan secara eksperimen (kombinasi ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B) yang dapat menurunkan respon sebanyak 30% dibanding kontrol. Zexp (dengan tingkat kepercayaan 95%) diperoleh dari kurva dosis-respon pada kombinasi *Rhodiola rosea* dan vitamin B. Zexp dan Zadd dibandingkan secara statistik dengan menggunakan t-test. Isobologram diperoleh dengan cara memplotkan ED₃₀ dari *Rhodiola rosea* (pada sumbu x) terhadap ED₃₀ dari vitamin B (pada sumbu y). Zexp dan Zadd diplotkan pada grafik yang sama. Prinsip penentuan interaksi berdasarkan grafik isobologram (Gambar 2) ini adalah sebagai berikut (Huang *et al.* 2019): sumbu x dan sumbu y masing-masing

menunjukkan dosis obat x dan dosis obat y, sedangkan a dan b menunjukkan dosis yang memberikan efek yang sama (misalnya ED₃₀) ketika obat tersebut diberikan secara tunggal (tidak dikombinasikan/diberikan secara bersamaan). Garis yang menghubungkan antara a dan b disebut *additive line* (Z_{add}). Jika kedua obat tersebut digunakan secara bersamaan untuk mendapatkan efek yang sama, maka dimana letak kombinasi dosis antara kedua obat tersebut (Z_{exp}) pada grafik isobologram:

- Jika diatas *additive line* (titik O) → maka kedua obat memiliki interaksi antagonis
- Jika pada *additive line* (titik P) → maka kedua obat memiliki interaksi *additive*
- Jika dibawah *additive line* (titik Q) → maka kedua obat memiliki interaksi sinergis



Gambar 2. Isobologram interaksi diantara 2 obat (Montiel-Ruiz *et al.* 2013)

Indeks interaksi juga dihitung dengan menggunakan rumus berikut: $\gamma = a/A + b/B$, dimana A dan B adalah ED₃₀ masing-masing obat, sedangkan a dan b adalah ED₃₀ dari kombinasi obat yang diberikan. Jika $\gamma < 1$ maka interaksi bersifat sinergis. Jika $\gamma > 1$, maka interaksi bersifat antagonis. Dan jika $\gamma = 1$, maka interaksi hanya bersifat *additive*.

3. HASIL PENELITIAN

3.1. Efek Antinosiseptif Dari Ekstrak *Rhodiola rosea*

Hasil penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Rhodiola rosea* memiliki efek antinosiseptif yang dilihat dari frekuensi tikus dalam menjilati bekas injeksi formalin (*licking time*) yang lebih rendah dibanding tikus yang tidak diberikan ekstrak. Pada fase

pertama, antinosiseptif berhubungan dengan neurogenik, sedangkan fase kedua berhubungan dengan terjadinya inflamasi di daerah bekas injeksi formalin. Selain itu, hasil penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) menunjukkan bahwa dosis mempengaruhi efek antinosiseptif ekstrak *Rhodiola rosea*, dimana semakin besar dosis yang diberikan, frekuensi *licking time* semakin rendah. Pada fase pertama, dosis yang efektif sebesar 177 mg/kg, dan pada fase kedua dosis yang efektif sebesar 30 mg/kg. Nilai ED₃₀ dari ekstrak *Rhodiola rosea* sebesar 27,5 ± 5,2 mg/kg. Tidak ada efek samping yang terlihat pada tikus selama penelitian akibat pemberian ekstrak *Rhodiola rosea* ini.

3.2. Efek Antinosiseptif Dari Vitamin B

Hasil penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pemberian vitamin B, baik secara tunggal maupun campuran/kombinasi, dapat menurunkan frekuensi tikus dalam menjilati bekas injeksi formalin (*licking time*). Semakin tinggi dosis vitamin B, semakin besar juga aktivitas antinosiseptif dari vitamin B tersebut, dengan efek antinosiseptif yang maksimal dan ED₃₀ dari vitamin B yaitu (Tabel 2):

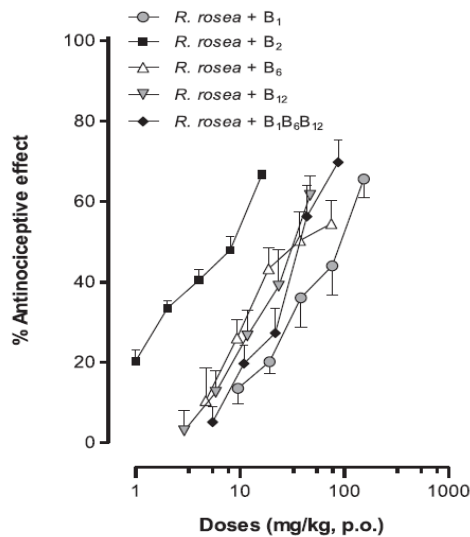
Tabel 2. Efek antinosiseptif maksimal dan ED₃₀ dari vitamin B

Vitamin	Efek antinosiseptif maksimal (%)	ED ₃₀ (mg/kg)
B ₁ (thiamin)	85,2	173,5 ± 29,4
B ₂ (riboflavin)	55,1	5,8 ± 1,8
B ₆ (piridoksin)	81,2	102,8 ± 17,5
B ₁₂ (sianokobalamin)	54,8	24 ± 17,5
B ₁ +B ₆ +B ₁₂	48,3	164,7 ± 17,5

Sumber: Montil-Ruiz *et al.* (2013)

3.3. Efek Antinosiseptif Dari Ekstrak *Rhodiola rosea* Dan Vitamin B

Kurva dosis-respon efek antinosiseptif ekstrak *Rhodiola rosea* yang dikombinasikan dengan vitamin B (Gambar 3) menunjukkan bahwa semakin besar dosis yang diberikan, semakin besar pula efek antinosiseptif yang ditimbulkan.



Gambar 3. Kurva hubungan dosis kombinasi ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B terhadap persentase aktivitas antinociceptif (Montiel-Ruiz *et al.* 2013).

Dari hasil percobaan yang ditunjukkan pada Gambar 1, nilai Z_{exp} dari masing-masing kombinasi dapat dihitung. Z_{add} dihitung berdasarkan data ED_{30} ekstrak *Rhodiola rosea* dan ED_{30} masing-masing vitamin B dan campuran vitamin B. Kemudian nilai Z_{exp} dan Z_{add} diplotkan pada isobologram. Berdasarkan hasil pengolahan data yang dilakukan oleh Montiel-Ruiz *et al.* (2013), nilai Z_{exp} semua kombinasi ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B berada dibawah *theoretical additive line*, dan berbeda nyata dengan *theoretical additive point*. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi pada semua kombinasi bersifat sinergis. Kesimpulan ini juga didukung oleh indeks interaksi yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Indeks interaksi antara ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B

Kombinasi	Indeks interaksi
<i>Rhodiola rosea</i> + B ₁	0,27
<i>Rhodiola rosea</i> + B ₂	0,11
<i>Rhodiola rosea</i> + B ₆	0,18
<i>Rhodiola rosea</i> + B ₁₂	0,48
<i>Rhodiola rosea</i> + B ₁ + B ₆ + B ₁₂	0,17

Sumber: Montiel-Ruiz *et al.* (2013)

Berdasarkan Tabel 3, indeks interaksi dari semua kombinasi memiliki nilai lebih kecil dari 1, yang berarti bahwa interaksi bersifat sinergis. Semakin kecil nilai indeks interaksi, semakin besar hubungan sinergisme diantara ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B. Jika diurutkan,

maka sinergisme ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B₂ (0,11) > ekstrak *Rhodiola rosea* dengan campuran vitamin B₁+B₆+B₁₂ (0,17) > ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B₆ (0,18) > ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B₁ (0,27) > ekstrak *Rhodiola rosea* dengan vitamin B₁₂ (0,48).

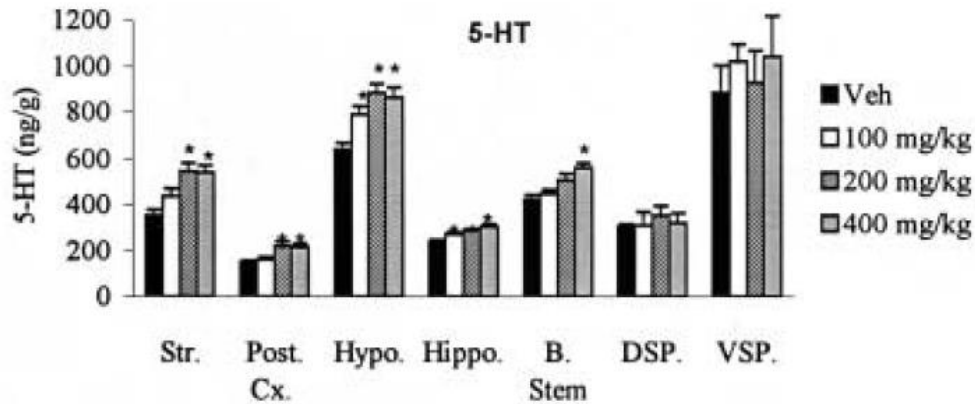
4. MEKANISME ANTINOSISEPTIF VITAMIN B DAN EKSTRAK *Rhodiola Rosea*

Berdasarkan hasil pengujian beberapa senyawa yang bersifat antagonis terhadap beberapa reseptor, diperoleh hasil bahwa pemberian flumazenil, WAY100635, atau naltrexone tidak merubah respon nosiseptif pada tikus kontrol (diberi *vehicle* (hanya larutan garam) dan diinjeksi formalin 2%). Namun demikian, efek antinosiseptif dari ekstrak *Rhodiola rosea* hilang dengan pemberian flumazenil dan WAY100635.

Dalam hubungannya dengan *nitric oxide pathway*, tikus diberi dengan L-NAME, SIN-1, ODQ atau glibenclamide. Hasil penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) menunjukkan bahwa efek antinosiseptif dari ekstrak *Rhodiola rosea* hilang dengan adanya L-NAME, ODQ dan glibenclamide, tapi justru meningkat dengan adanya SIN-1.

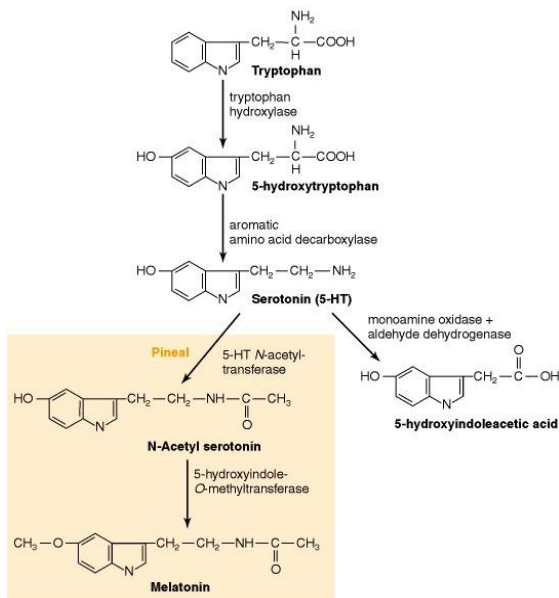
Flumazenil (FLU) dan WAY100635 (WAY) masing-masing merupakan antagonis reseptor GABA_A/BDZ dan antagonis reseptor serotonin 5-HT_{1A}. Dengan adanya senyawa tersebut, efek antinosiseptif dari *Rhodiola rosea* menjadi hilang. Berdasarkan fenomena tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas antinosiseptif melibatkan reseptor GABA_A/BDZ dan 5-HT_{1A}.

Dalam hubungannya dengan reseptor GABA_A/BDZ, belum ada penelitian yang mempelajari mekanisme lebih lanjut mengenai peran reseptor ini terhadap proses antinosiseptif. Kaitannya dengan reseptor 5-HT_{1A}, Courade *et al.* (2001) menunjukkan bahwa pemberian obat anti-analgesik acetaminophen (parasetamol) dapat meningkatkan level serotonin (5-HT) di otak (Gambar 4).



Gambar 4. Efek obat analgesik acetaminophen (parasetamol) terhadap kadar serotonin (5-HT) pada striatum (Str), posterior cortex (Post. Cx), hypothalamus (Hypo), hippocampus (Hippo), brain stem (B. Stem), dorsal spinal cord (DSP), ventral spinal cord (VSP). Vehicle (Veh) adalah 0,1% NaCl, 1% gum arabic, 0,01% Tween 80, 5 mL/kg per os (Courade *et al.* 2001).

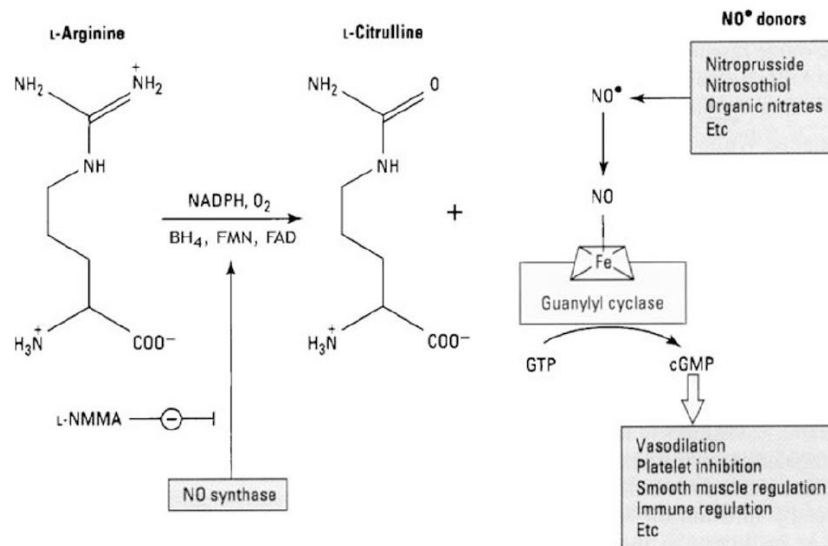
Peningkatan serotonin ini merupakan salah satu mekanisme antinosesepitif dari acetaminophen (parasetamol), dan kemungkinan juga terjadi pada ekstrak *Rhodiola rosea*, vitamin B serta kombinasinya, karena hasil penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) telah menunjukkan bahwa efek antinosesepitif *Rhodiola rosea* hilang dengan pemberian WAY100635 (antagonis reseptor serotonin 5-HT_{1A}). Sifat sinergisnya dengan vitamin B disebabkan, terutama vitamin B₆, merupakan koenzim dalam pembentukan serotonin (Gambar 5).



Gambar 5. Biosintesis dan katabolisme serotonin (Frazer & Hensler, 1999)

Enzim aromatik L-amino acid dekarboksilase (AADC) merupakan enzim yang mengandung pyridoxal 5'-phosphate (PLP), yaitu bentuk aktif dari vitamin B₆. Enzim ini mengubah 5-hidroksitriptofan menjadi serotonin (5-HT). Telah dilaporkan bahwa asupan piridoksin dapat meningkatkan sintesis serotonin pada otak monyet. Enzim AADC tidak hanya terdapat pada serotonergic neurons, tetapi juga terdapat pada catecholaminergic neurons yang mengubah 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) menjadi dopamine.

Hasil selanjutnya dari penelitian Montiel-Ruiz *et al.* (2013) adalah peningkatan efek antinsiseptif dengan pemberian SIN-1 (donor elektron untuk NO) menunjukkan bahwa ekstrak *Rhodiola rosea* dapat menghambat pembentukan radikal NO. Seperti telah diketahui bahwa prekursor pembentukan NO adalah L-arginin yang melibatkan koenzim FMN (flavin mononukleotida) dan FAD (adenine dinukleotida) (Ghalayini, 2004), dimana vitamin B₂ (riboflavin) merupakan bagian dari koenzim flavin tersebut. Mekanisme reaksi keterlibatan vitamin B ini ditunjukkan pada Gambar 6.

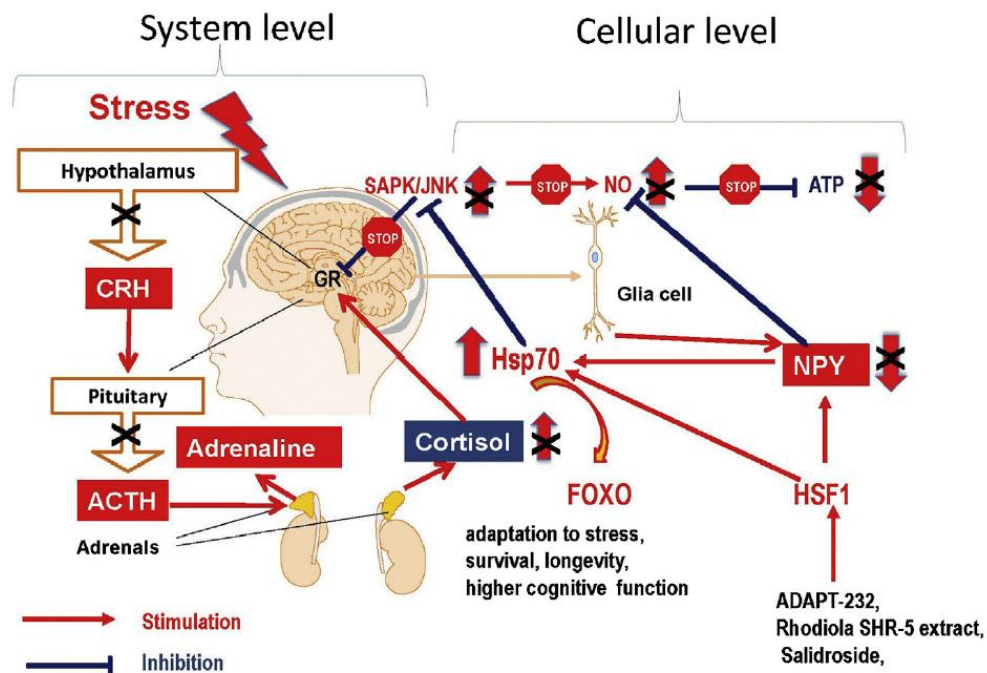


Gambar 6. Mekanisme pembentukan NO yang melibatkan FMN dan FAD (Ghalayini, 2004)

Berdasarkan mekanisme pada Gambar 6, terlihat jelas bahwa pada pemberian L-NAME (inhibitor *nitric oxide synthase*) dan ODQ (inhibitor enzim *guanylyl cyclase*) dapat menurunkan efek antinosiseptif ekstrak *Rhodiola rosea* (Montiel-Ruiz *et al.* 2013). Proses nosiseptif tikus yang diinjeksi formalin, terjadi dalam 2 fase, dimana fase pertama disebabkan efek langsung dari

formalin terhadap nociceptor, sedangkan fase kedua disebabkan proses inflamasi (Le Bars *et al.* 2001). Dengan adanya donor elektron untuk NO radikal, maka akan terbentuk cGMP yang akan menstimulasi respon imun, sehingga inflamasi yang terjadi pada fase kedua menjadi berkurang.

Selain sebagai entinosiseptif, *Rhodiola rosea* dapat berfungsi sebagai adaptogen, yaitu suatu zat yang bisa membantu tubuh menangkal stress. Asea *et al.* (2013) telah mempelajari mekanisme aktivitas adaptogenik dari tanaman ini. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak *Rhodiola rosea* dapat menstimulasi pelepasan NPY (neuropeptida Y) dan Hsp70 (*Heat shock protein-70*) dari sel neuroblastoma. Hsp adalah molekul protein yang berperan mempertahankan homeostasis struktur dan fungsi sel pada keadaan normal maupun pada kondisi stress. Adapun mekanismenya ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Mekanisme ekstrak *Rhodiola rosea* dan komponen aktifnya (salidroside), serta ADAPT-232 (obat yang komposisinya merupakan ekstrak akar *Eleutherococcus*, ekstrak buah berry *Schisandra chinensis*, dan ekstrak akar *Rhodiola rosea* SHR-5 dengan rasio yang sudah tetap) dalam menekan stress (Asea *et al.* 2013)

Kondisi stress dapat menstimulasi pelepasan CRH (*corticotrophin releasing hormone*) dari hipotalamus, yang diikuti dengan pelepasan ACTH (*Adrenocorticotropic hormone*) dari pituitary, sehingga akan menstimulasi pelepasan hormon adrenal dan neuropeptida Y (NPY) untuk

memobilisasi sumber energi dalam menghadapi stress. Ketika hal ini terjadi, adrenal cortex akan melepaskan hormon kortisol sebagai *feedback regulation of overreaction*. Kemudian hormon ini akan terikat pada *glucocorticoid receptor* (GR) di otak. Sinyal ini akan menghentikan pelepasan hormon otak lebih lanjut dan menurunkan pengeluaran kortisol yang diinduksi oleh kondisi stress ke level normal. Stress yang ringan (seperti tantangan dalam pekerjaan) justru sangat penting dalam kehidupan. Namun kondisi stress yang sangat berat berhubungan dengan pembentukan oksigen radikal, termasuk radikal NO, yang diketahui dapat menghambat pembentukan ATP. Stress dapat mengaktivasi protein kinase (SAPK/JNK/MAPK) untuk menghambat aktivitas GR, sehingga *feedback down-regulation* juga dihambat. Akibatnya kortisol tidak dapat berikatan dengan GR, dan kadar kortisol di dalam darah menjadi tinggi, menyebabkan beberapa gangguan seperti pusing, depresi, gangguan memori, dan tidak bisa berkonsentrasi. Adaptogen (contohnya ekstrak *Rhodiola rosea*) menormalkan level kortisol yang diinduksi oleh stress ini, dan mediator lain seperti NO radikal. Ekstrak *Rhodiola rosea* juga menghambat aktivitas SAPK melalui ekspresi HSF1 (*Heat Shock Factor 1*), NPY, dan Hsp70. Pada akhirnya, pembentukan NO dapat ditekan. Hsp70 berfungsi pada level interseluler untuk meningkatkan pertahanan protein terhadap radikal oksigen yang dihasilkan di mitokondria, termasuk NO dan anion superoksida. Pelepasan Hsp70 bertindak sebagai sinyal bahaya endogenous dan berperan penting dalam stimulasi respon imun. Berdasarkan Gambar 6 dan Gambar 7, terdapat hubungan sinergisme antara ekstrak *Rhodiola rosea* dan vitamin B₂, dimana keduanya bersama-sama menghambat pembentukan NO radikal.

Selain vitamin B₂, vitamin B₁ (thiamin) juga berfungsi dalam mengaktivasi *soluble Guanylyl cyclase* (sGC) dan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) pada berbagai jaringan, dimana cGMP ini berperan penting dalam aktivitas antinosiseptif. Hal ini dibuktikan oleh Abacioglu *et al.* (2000). Pada penelitiannya, tikus diinjeksi secara subkutan dengan thiamin, L-arginin, L-NAME, MB (*metilen blue, nociceptive agonist*), dan kombinasinya. Tiga puluh menit kemudian tikus diinjeksi secara intraperitoneal dengan 0,2 mL p-benzoquinone 0,02%. Hasil penelitian ditunjukkan pada Gambar 8.

L-arginin terlibat dalam sintesis NO dengan bantuan NO sintase (NOS) baik yang terjadi di otak, maupun di jaringan perifer. Hasil penelitian Abacioglu *et al.* (2000) menunjukkan bahwa pemberian L-arginin secara tunggal, memiliki efek antinosiseptif yang lebih rendah dari thiamin. Pada pemberian thiamin + L-arginin, efek antinosiseptif hampir sama dengan pemberian thiamin. Pada pemberian thiamin + L-NAME (inhibitor NO sintase), respon antinosiseptif tidak berubah

dibanding dengan thiamin. Hal ini menunjukkan thiamin berperan dalam metabolisme/keterlibatan L-arginin, tetapi bukan pada level NO sintase. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa antinosiseptif thiamin terjadi dengan cara mengaktivasi Guanilyl Cyclase untuk memediasi pembentukan cGMP.

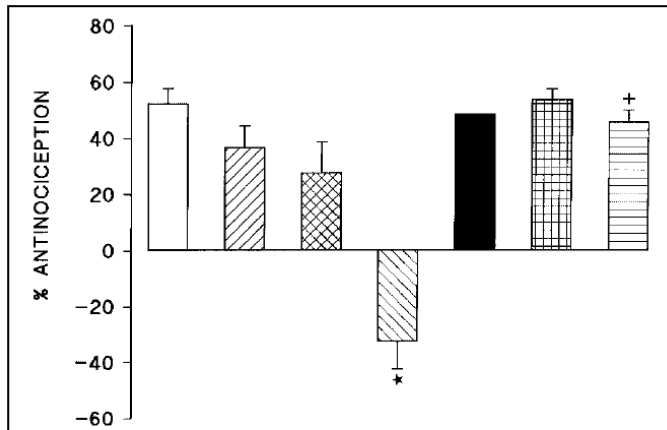


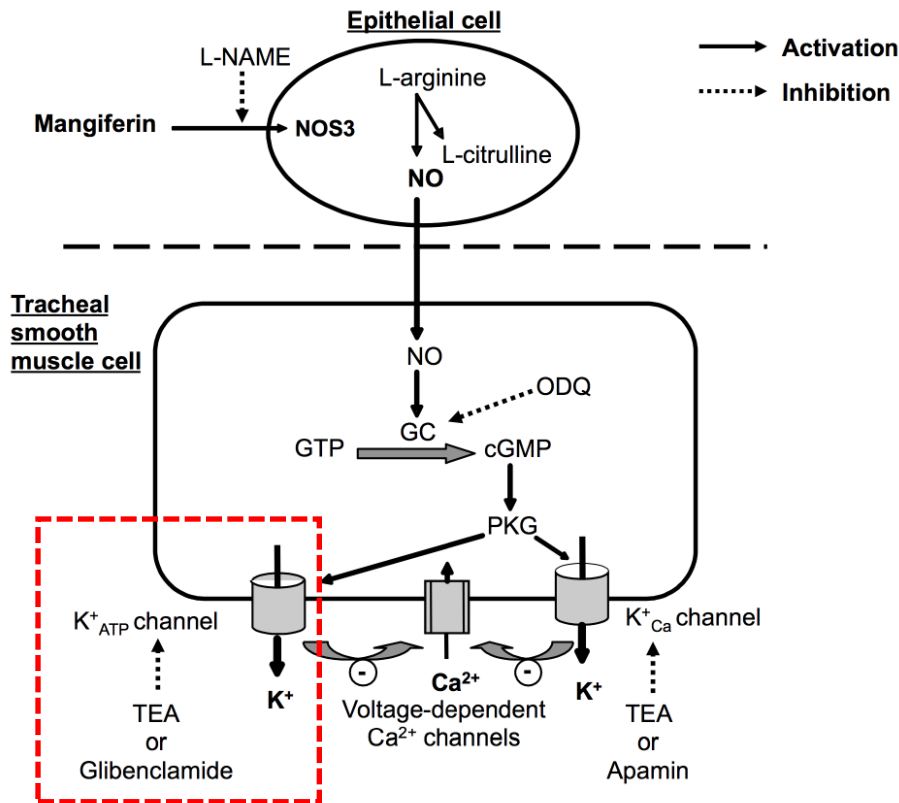
Fig. 1: Involvement of L-arginine/NO sensitive process in thiamine-induced antinociception in PBQ-induced abdominal constriction test in mice. □ Thiamine (0.11 mg/kg); ▨ L-arginine (50 mg/kg); ▩ L-NAME (75 mg/kg); ▤ MB (40 mg/kg); ■ thiamine (0.11 mg/kg) + L-arginine (50 mg/kg); ▦ thiamine (0.11 mg/kg) + L-NAME (75 mg/kg); ▧ thiamine (0.11 mg/kg) + MB (40 mg/kg). Each data were given as means ± SEM. Statistically significant difference from * thiamine; + 40 mg/kg MB ($p < 0.05$).

Gambar 8. Efek antinosiseptif dari thiamin, L-arginin, L-NAME, MB dan kombinasinya pada tikus yang diinjeksi dengan p-benzoquinone (PBQ) (Abacioglu *et al.* 2000).

Berdasarkan perlakuan dengan glibenclamide (bloker ATP-sensitive K^+ -channels) sebanyak 1 mg/kg, aktifitas antinosiseptif ekstrak *Rhodiola rosea* juga menghilang (Montiel-Ruiz *et al.* 2013). Hal ini menunjukkan bahwa K^+ channel pathway juga terlibat. Li *et al.* (2010) dan Vieira *et al.* (2013) menjelaskan bahwa K^+ channels berhubungan dengan NO signaling pathway, dimana cGMP yang dihasilkan dari guanylyl cyclase akan menghasilkan respon pada tingkat seluler, salah satunya adalah meningkatkan aliran K^+ efflux (ke arah luar) dengan cara mengaktifkan protein kinase A (PKA). Mekanisme hubungan antara NO pathway dan K^+ channels ini ditunjukkan pada Gambar 9.

Peran vitamin B₁₂ dalam antinosiseptif, kemungkinan besar di level respon imun. Hal ini berarti efek antinosiseptif dari vitamin B₁₂ maupun kombinasinya dengan ekstrak *Rhodiola rosea* berperan penting dalam fase 2. Mikkelsen *et al.* (2017) melaporkan beberapa fungsi vitamin B₁₂ kaitannya dengan respon imun (Tabel 4). Martins *et al.* (2020) telah membuktikan melalui

penelitiannya yang menunjukkan bahwa efek antinosiseptif dari vitamin B complex (B₁, B₆ dan B₁₂) terjadi melalui penghambatan ekspresi sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , IL-6, dan TNF- α) pada sel glia. Hal ini sesuai dengan fungsi yang ditunjukkan pada Tabel 4, dimana vitamin B₁, B₂, dan B₆ juga memiliki fungsi dalam respon imun. Oleh karena itu, selain melalui mekanisme peningkatan serotonin, dan NO/cGMP/K⁺ pathway, vitamin B meningkatkan antinosiseptif melalui kemampuannya dalam meningkatkan respon imun.



Gambar 9. Mekanisme hubungan NO pathway dengan K⁺ channels, dimana glibenclamide dapat memblok K⁺ channels (Vieira *et al.* 2013).

Selain itu, NPY dan Hsp70 yang aktivitasnya distimulasi oleh ekstrak *Rhodiola rosea*, ternyata dapat meregulasi sistem imun, dimana penghambatan sintesis NO melalui aktivasi NPY dapat mencegah pelepasan IL-1 β (sitokin pro-inflamasi) di microglia (Fereira *et al.* 2010).

Tabel 4. Fungsi vitamin B dalam sistem imun

Vitamin B	Immune response	Deficiency outcome
B1 Thiamin	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxidative effect • Suppresses oxidative stress activation of NF-κB 	<ul style="list-style-type: none"> • Leads to neuro-inflammation, pro-inflammatory responses • Stimulates CD40, CD40 L which triggers death of neurons • Leads to memory defects, cognitive decline, emotional disturbances and depression
B2 Riboflavin	<ul style="list-style-type: none"> • Activates MAIT cells 	<ul style="list-style-type: none"> • Promotes Stress factor • Interferes with adherence of macrophages • Inhibition of Respiratory burst • Low cell proliferation • Enhanced apoptotic death • Role in depression not clear
B3 Niacin	<ul style="list-style-type: none"> • Positive effect on plasma lipoproteins • Dampens inflammation • Niacin supplementation down regulates TGF-β gene expression • Inhibits NF-κB activity 	<ul style="list-style-type: none"> • Effect on cutaneous immunity • Used to treat schizophrenia manic depression, benign depression and tension anxiety conditions • Acts on monocytes • Downregulates inflammation, a main contributor to depression
B6 Pyridoxal-5-phosphate	<ul style="list-style-type: none"> • Down regulates NF-κB activity levels in LPS stimulated mouse macrophages. 	<ul style="list-style-type: none"> • Deficiency leads to adverse effects on methylation reactions • Lymphocyte differentiation and maturation are altered • Triggers many diseases related to chronic inflammation and may have consequences in depression
B9 Folic acid	<ul style="list-style-type: none"> • Pre treatment with folic acid inhibits homocystein induced NF-κB activation in cultured human monocytes. • Regulates immune responses 	<ul style="list-style-type: none"> • Impaired immune response • Decreased blastogenic response of T lymphocytes • Alterations of the thymus
B12 Cobalamin	<ul style="list-style-type: none"> • Immune system regulation. • Immunomodulator of cellular immunity • Involved in cell division 	<ul style="list-style-type: none"> • Reduced cytotoxic T cells (CD8+) • Reduced NK cells • High CD4/CD8 ratio • High levels of TNF-α • IL-6 decreased
B17 Amygdalin	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-inflammatory action 	<ul style="list-style-type: none"> • No known effects • Believed to increase risk of cancer although this is controversial

Sumber: Mikkelsen *et al.* (2017)

5. KESIMPULAN

Vitamin B memiliki interaksi yang bersifat sinergis dengan ekstrak *Rhodiola rosea* dalam efek antinosisseptif pada tikus yang diinjeksi dengan formalin. Efek sinergis ini terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu peningkatan serotonin, aktivasi NPY dan Hsp70, NO/cGMP/K⁺ channels pathway, serta aktivasi respon imun.

DAFTAR PUSTAKA

Jurnal utama:

1. Montiel-Ruiz RM, Gonzalez-Trujano ME, Deciga-Campos M. 2013. Synergistic interactions between the antinociceptive effect of *Rhodiolarosea extract* and B vitamins in the mouse formalin test. *Phytomedicine* 20:1280– 1287.
2. Courade JP, Caussade F, Martin K, Besse D, Delchambre C, Hanoun N, Hamon M, Eschaliere A, Cloarec A. 2001. Effects of acetaminophen on monoaminergic systems in the rat central nervous system. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology* 364:534-537.
3. Abacioglu N, Demir S, Cakici I, Tunctan B, Kanzik I. 2000. Role of guanylyl cyclase activation via thiamine in suppressing chemically-induced whitening in mouse. *Drug Research*. 50:554-558.

Jurnal pendukung:

- Asea A, Kaur P, Panossian A, Wikman KG. 2013. Evaluation of molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts. *Phytomedicine* 20:1323– 1329.
- Ferreira R, Xapelli S, Santos T, Silva AP, Cristovao A, Cortes L, Malva JO. 2010. Neuropeptide Y Modulation of Interleukin-1 β (IL-1 β)-induced *Nitric oxide* Production in Microglia. *The Journal of Biological Chemistry* 285:41921-41934.
- Frazer A, Hensler JG. 1999. Serotonin. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Ghalayini IF. 2004. Nitric oxide–cyclic GMP pathway with some emphasis on cavernosal contractility. *International Journal of Impotence Research* 16:459–469.
- Huang R, Pei L, Liu Q, Chen S, Dou H, Shu G, Yuan Z, Lin J, Peng G, Zhang W, Fu H. 2019. Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. *Frontiers in Pharmacology* 10:1-12.
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. 2001. Animal models of nociception. *Pharmacological Review* 53: 597–652.
- Li JT, Somasundaram C, Bian K, Xiong W, Mahmooduddin F, Nath RK, Murad F. 2010. *Nitric oxide* signaling and neural stem cell differentiation in peripheral nerve regeneration. *Journal of Plastic Surgery* 10:343-353.

- Martins DO, Marques DP, Venega RAG, Chacur M. 2020. Photobiomodulation and B vitamins administration produces antinociception in an orofacial pain model through the modulation of glial cells and cytokines expression. *Brain, Behavior, & Immunity - Health* 2:1-9.
- Mikkelsen K, Stojanovska L, Prakash M, Apostolopoulos V. The effects of vitamin B on the immune/cytokine network and their involvement in depression. *Maturitas* 96:58-71.
- Vieira AB, Coelho LP, Insuela DBR, Carvalho VF, Santos MH, Silva PMR, Martins MA. 2013. Mangiferin prevents guinea pig tracheal contraction via activation of the *nitric oxide*-cyclic GMP *pathway*. *PLoS ONE* 8: 1-11.